NÁTALY VILLA PAULINO DA SILVA

Bacillus subtilis em dietas de suínos nas fases de crescimento e terminação: resposta no desempenho, balanço nutricional, microbiológica, e econômica

PIRASSUNUNGA

2013

NÁTALY VILLA PAULINO DA SILVA

Bacillus subtilis em dietas de suínos nas fases de crescimento e terminação: resposta no desempenho, balanço nutricional, microbiológica, e econômica

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Ciências

Departamento:

Nutrição e Produção Animal

Área de concentração:

Nutrição e Produção Animal

Orientador:

Prof. Dr. Messias Alves da Trindade Neto

Pirassununga

2013

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade de São Paulo)

T.2763
FMVZ

Silva, Nátaly Villa Paulino da

Bacillus subtilis em dietas de suínos nas fases de crescimento e terminação: resposta no desempenho, balanço nutricional, microbiológica, e econômica / Nátaly Villa Paulino da Silva. -- 2013.
58 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Reprodução Animal, São Paulo, 2013.

Programa de Pós-Graduação: Reprodução Animal.

Área de concentração: Reprodução Animal.

Orientador: Prof. Dr. Messias Alves da Trindade Neto.

1. Probiótico. 2. Digestibilidade. 3. Produção de metano. 4. Condição experimental.
I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Comissão de Ética no uso de animais

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Uso de *Bacillus subtilis* em dietas de suínos nas fases de crescimento e terminação: avaliação do desempenho, balanço nutricional, avaliação microbiológica e avaliação econômica", protocolado sob o nº 2770/2012, utilizando 72 (setenta e dois) suínos, sob a responsabilidade do(a) Prof. Dr. Messias Alves da Trindade Neto, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da "Comissão de Ética no uso de animais" da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 19/9/2012.

We certify that the Research "Use of *Bacillus subtilis* in the diet of pigs in growing and finishing phases: performance assessment, nutritional balance, microbiological and economic evaluation", protocol number 2770/2012, utilizing 72 (seventy two) swine, under the responsibility Prof. Dr. Messias Alves da Trindade Neto, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by "Ethic Committee in the use of animals" of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 9/19/2012.

São Paulo, 20 de setembro de 2012.

Alice Maria Melville Paiva Della Libera
Vice-Presidente

Nome: SILVA, Nátaly Villa Paulino da

Título: *Bacillus subtilis* em dietas de suínos nas fases de crescimento e terminação: resposta no desempenho, balanço nutricional, microbiológica, e econômica.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Dedicatória

Aos meus amados pais Teresinha e Rogério que me deram apoio de todas as formas possíveis, e são muito mais do que pais, são amigos!

AGRADECIMENTOS

À Universidade de São Paulo (USP), por meio da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia e ao Departamento de Nutrição e Produção Animal pela coordenação e oportunidade do curso.

À CAPES pela bolsa concedida durante a minha permanência no mestrado.

Ao Comércio e Indústria Uniquímica Ltda. pelo financiamento total do projeto e à suas funcionárias Carina Mugumi Nishio e Alessandra Schmidt, que sempre estiveram à disposição para ajudar no que fosse necessário para a condução da pesquisa.

Ao Instituto de Zootecnia pela cessão das instalações para realização de parte da pesquisa.

A Deus por colocar as pessoas certas no meu caminho.

Aos meus pais que devem ter se privado de algumas coisas para me dar educação e conforto, pelos ensinamentos, pela presença e, principalmente, por acreditarem no meu potencial.

Ao meu orientador Prof. Dr. Messias Alves da Trindade Neto, por seus ensinamentos, disponibilidade, sabedoria, e paciência ao me orientar.

À Estação de Avaliação de Suínos, pertencente à Agência Paulista de Tecnologia e Agronegócio (APTA), pelo aluguel das instalações e às funcionárias: dna. Izabel, dna. Lourdes e dna. Fátima que com muito carinho, dedicação e experiência foram essenciais ao experimento e fizeram minha estadia em Tanquinho melhor.

Aos funcionários do IZ, Roseli, pela ajuda e pela amizade, sr. Dito, pelos transportes e ajuda e dna. Cida pelas conversas no alojamento.

Ao Prof. Dr. Fábio Enrique Lemos Budiño, pelos ensinamentos, disponibilidade e grande ajuda na condução do experimento.

Ao Prof. Dr. Augusto Gameiro, que me supervisionou e orientou no estágio PAE, pelos ensinamentos, exemplo de profissionalismo e ajuda.

Aos colegas de pós-graduação João Guilherme Ferreira e Júlio César Dadalt, que acompanharam o experimento e foram de primordial ajuda e dedicação.

À Granja Balloni, por meio do Diego e Arualdo Balloni, por permitir a condução da pesquisa em campo e pela ajuda.

À fábrica de ração Ceze Alimentos Ltda., através do Lauro Luchesi e Maurício, pela imensa ajuda em fabricar parte das rações utilizadas.

A todos os professores do Departamento de Nutrição e Produção Animal pelos ensinamentos.

Aos funcionários da secretaria de graduação e pós-graduação, Alessandra, Fábiana e João Paulo, pela ajuda e boa vontade.

À companheira de casa e amiga para todas as horas Teresa Cristina (Novilha) que ouviu meus desabafos e me ajudou a passar por esta fase da vida com mais alegria.

Aos colegas de pós-graduação, que de alguma forma contribuíram com a minha formação pessoal e profissional e pelos momentos de descontração tão necessários.

Ao Prof. Dr. Paulo Mazza, ao pós-graduando Lerner Piñedo e a equipe “dos fistulados” pela ajuda com o método de análise de metano.

Enfim, obrigada a todos que participaram direta e indiretamente.

Epígrafe

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar.

Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota.”

(Madre Teresa de Calcutá)

RESUMO

SILVA, N. V. P. ***Bacillus subtilis* em dietas de suínos nas fases de crescimento e terminação**: resposta no desempenho, balanço nutricional, microbiológica, e econômica. [*Bacillus subtilis* in swine diets in the growing and finishing phases: answers on performance, nutrient balance, microbiological and economic]. 2013. 58f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2013.

Os probióticos são indicados como alternativa para reduzir a infecção de patógenos e melhorar a saúde e o desempenho animal. O estudo presente avaliou desempenho zootécnico, balanço nutricional, produção de metano fecal e avaliação econômica e microbiológica da ração e fezes de suínos nas fases de crescimento e terminação, alimentados com dieta contendo probiótico (*Bacillus subtilis*) comparando-se os resultados aos oriundos de dietas inclusas ou não de antimicrobianos. Constatou-se que além do GPD na fase de crescimento II, as demais variações dos resultados sugerem melhor conversão alimentar dos animais submetidos ao tratamento com probiótico, quando os animais foram segregados da condição comercial de produção para a condição experimental. A inclusão de probiótico na dieta melhorou a digestibilidade aparente da proteína, indicando também melhor digestibilidade da matéria seca, da energia e da relação energia digestível: energia bruta. Não houve significativa perda de capital, quando se optou pela inclusão dietética do probiótico, ao invés do antibiótico. Fezes oriundas da dieta com probiótico produziram menor quantidade de metano que aquelas da combinação probiótico e antibiótico ou só o antibiótico.

Palavras-chave: Probiótico. Digestibilidade. Produção de Metano. Condição experimental.

ABSTRACT

SILVA, N. V. P. *Bacillus subtilis* in swine diets in the growing and finishing phases: answers on performance, nutrient balance, microbiological and economic. [*Bacillus subtilis* em dietas de suínos nas fases de crescimento e terminação: resposta no desempenho, balanço nutricional, microbiológica, e econômica] 2013. 58f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2013.

Probiotics are indicated as alternatives to reduce infections from pathogenic microorganisms and improve health and animal performance. The objective of this research was to evaluate growth performance, nutrient balance, economic parameters, feces methane production and feces microbial status of pigs fed probiotic (*Bacillus subtilis*) and different protein. Results from antibiotic diet were compared with probiotic diet in all situations. Beside weight gain (AWG) during growth phase II, most of results suggest better feed conversion for pigs under probiotic diet, under segregation condition from farm and conventional pig production. The probiotic inclusion in the diet improved the protein digestibility as well suggested better dry matter and energy digestibility and digestibility: gross energy rate. There is no significant capital loss with probiotic inclusion in the diet compared to antibiotic inclusion. Feces derived from pigs fed with probiotic diet produced less methane than those pigs fed with probiotic and antibiotic diet or antibiotic diet.

Keywords: Probiotic. Digestibility. Methane production. Experimental Condition.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Produção de metano nas fezes em 24, 48, 96 e 168 horas após coleta (mMol/kg/h).....	48
Figura 2 - Produção de metano nas fezes em 24, 48, 96 e 168 horas após coleta (mg/kg/h)	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Ingredientes e composição nutricional das dietas experimentais	28
Tabela 2 -	Temperatura (°C) e umidade relativa do ar, médias por semana do período experimental.....	28
Tabela 3 -	Desempenho de suínos nas fases de crescimento e terminação recebendo dietas com ou sem antibiótico e probiótico	35
Tabela 4 -	Desempenho de suínos nas fases de crescimento e terminação recebendo dietas com ou sem antibiótico e probiótico	36
Tabela 5 -	Desempenho de suínos no período total de experimento (crescimento e terminação) recebendo dietas com ou sem antibiótico e probiótico	37
Tabela 6 -	Desempenho de suínos no período total de experimento (crescimento e terminação) recebendo dietas controle negativo, com antibiótico e com probiótico.....	38
Tabela 7 -	Contagem de <i>Bacillus subtilis</i> na ração através de avaliação microbiológica	39
Tabela 8 -	Contagem de microorganismos nas fezes de suínos nas fases de crescimento I, crescimento II e terminação	40
Tabela 9 -	Balanco nutricional em suínos na fase de crescimento alimentados com dieta controle (sem probiótico ou antibiótico) e dieta com probiótico (<i>Bacillus subtilis</i>)	42
Tabela 10 -	Indicadores econômicos na fase de crescimento I de suínos.....	44
Tabela 11 -	Indicadores econômicos na fase de crescimento II de suínos	44
Tabela 12 -	Indicadores econômicos na fase de terminação de suínos	45

Tabela 13 - Indicadores econômicos na fase de crescimento I à terminação de suínos	45
Tabela 14 - Desempenho de suínos (machos castrados e fêmeas) sob condições de granja submetidos a dietas com antibiótico e com probiótico (<i>Bacillus subtilis</i>)	46
Tabela 15 - Produção de metano nas fezes após 24, 48, 96 e 168 horas após a coleta.	47
Tabela 16 - Média de pH das fezes no momento da coleta.	48

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	OBJETIVOS	18
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
3.1	Probióticos.....	19
3.1.1	Mecanismos de ação dos probióticos	21
3.1.2	Bacillus subtilis	22
3.2	Produção de gás metano suinocultura.....	25
4	MATERIAL E MÉTODO	27
4.1	Desempenho.....	27
4.2	Balanço nutricional:	29
4.3	Análise Econômica	30
4.4	Desempenho nas condições de granja	31
4.5	Avaliação de metano nas fezes.....	32
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
5.1	Desempenho.....	34
5.2	Avaliação microbiológica	38
5.3	Balanço Nutricional	41
5.4	Avaliação Econômica	42

5.5 Desempenho em granja.....45

5.6 Avaliação de Metano47

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....49

7 CONCLUSÕES50

REFERÊNCIAS51

1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento da suinocultura se deu sob diferentes modelos de produção, dentre os quais, predominaram os de ciclo completo, quando todas as categorias animais são mantidas num mesmo sistema. Tal modelo, ao longo do tempo, impôs situações em que o sistema imunológico do suíno, gradualmente, é desafiado por agentes microbiológicos. A maior ou menor concentração desses agentes infecciosos, devido à manutenção de categorias de suínos num mesmo sistema, determina as situações crônicas de infecção de uma granja. Sob constante desafio crônico, o suíno tem o crescimento deprimido, limitando, portanto, a eficiência das diretrizes nutricionais, quando se visa maximizar a expressão genotípica para ganho proteico ou massa corporal magra. Junto à redução da eficiência da produção do suíno a vida útil das instalações também é reduzida. Diante do eminente problema, abriu-se o campo para os estudos dos promotores de crescimento, fazendo-se uso dos antimicrobianos de diferentes princípios ativos para minimizar o impacto do constante desafio do suíno em suas diferentes fases do desenvolvimento. Os antimicrobianos reduziram o impacto do desafio imunológico e melhorou o desempenho do suíno, dessa forma, foi difundido amplamente na produção animal, sobretudo, a confinada.

Sustentada, em parte, pelo amplo emprego dos antibióticos e quimioterápicos a produção de suínos também foi desenvolvida no Brasil, todavia, na década de 80 alguns países europeus passaram a obstar o uso indiscriminado dos agentes microbianos, devido, principalmente, aos novos questionamentos sobre os efeitos desses produtos no homem, devido à seleção de cepas resistentes, toxidade ou alergias nos humanos, seja por manipulação na confecção das rações ou pelo consumo da carne. Dessa forma, gradualmente vem sendo banidos da produção animal, sendo necessário que se encontrem boas alternativas ao seu uso. A partir daí abrem-se as pesquisas com as alternativas, onde se encontram os probióticos.

Os probióticos podem ser definidos como microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro. A administração dietética de bactérias benéficas impede a fixação dos patógenos, ajudando a manter o equilíbrio mesmo em situações adversas.

Atualmente, existe no mercado microorganismos com grande potencial de serem utilizados como probióticos, dentre os quais se incluem bactérias do ácido láctico, diversas espécies de *Bacillus sp.* e a levedura *Saccharomyces cerevisiae*.

Os probióticos constituem alternativa para reduzir a infecção de patógenos e melhorar a saúde e o desempenho animal. No entanto, ainda há a necessidade de esclarecer a eficácia e os mecanismos de ação dessas substâncias quando incorporadas à dieta nas diferentes fases de vida da espécie suína.

Assim, o presente trabalho visou de elucidar a eficiência no uso de *Bacillus subtilis*, como alternativa ao uso de antibiótico, em dietas de suínos nas fases de crescimento e terminação, sob condições experimentais e, na condição de granja (produção comercial de ciclo completo).

2 OBJETIVOS

Avaliar o desempenho zootécnico, balanço nutricional de suínos alimentados com dieta contendo probiótico (*Bacillus subtilis*), em relação à utilização ou não de antimicrobianos nas fases de crescimento e terminação. Avaliar a composição microbiológica das rações, produção de metano fecal e a viabilidade econômica da inclusão dos aditivos.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Probióticos

Ao nascimento, o trato intestinal dos mamíferos é estéril, mas rapidamente adquire microorganismos da progenitora, de outros contatos externos e do ambiente (FULLER; GIBSON, 1998). Sabe-se que esta microflora é componente essencial da fisiologia animal, por representar uma barreira essencial contra a colonização do trato gastrointestinal por bactérias patogênicas e por participar ativamente dos processos de digestão dos alimentos e do metabolismo de fármacos (HAESE; SILVA, 2004).

Os probióticos, definido por Crawford (1979), são os aditivos constituídos por microorganismos vivos ou bactérias úteis, denominados como cultura de microorganismos vivos favorável a microbiota intestinal, melhorando o aproveitamento dos alimentos. Os probióticos são valiosos na alimentação animal, pois possuem ações benéficas semelhantes as dos antibióticos, porém sem características indesejáveis da resistência bacteriana e residual nas carcaças (COSTA et al., 2010).

Os probióticos podem conter bactérias totalmente conhecidas e quantificadas ou culturas bacterianas não definidas. Dentre as espécies de bactérias mais comuns na formulação de probióticos estão os *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Bifidobacterium* e *Bacillus* (BUTOLO, 2001).

Uma característica desejável do probiótico é a estabilidade na presença do suco gástrico, sendo eficazes nos diferentes segmentos do sistema digestivo, compondo grupos de bactérias que, propiciam efeitos benéficos na absorção de nutrientes (VASSALO et al., 1997).

Quanto menor o estresse sofrido pelo animal, melhores condições sanitárias da criação e mais equilibrada a flora intestinal, menor é o efeito tanto dos antibióticos quanto dos probióticos (MACARI; FURLAN, 2005). A eficácia dos probióticos depende, também, da concentração bacteriana na ração (COPOLA; TURNES, 2004). Roth e Kirchgessner (1988) obtiveram melhor desempenho de leitões nas concentrações de 5×10^8 ou 1×10^9 de esporos viáveis por Kg de ração, Alexopoulos et al. (2004) encontraram 28×10^6 de esporos viáveis de *B. licheniformis* e de *B. subtilis* por grama de alimento como melhor alternativa para leitões

desmamados até os 120 de dias idade. Todas essas variáveis podem explicar a inconsistência dos resultados no uso de probióticos como substitutos dos antibióticos (AFONSO, 2011), quando resultados se mostram satisfatórios ou insatisfatórios.

Os efeitos positivos dos probióticos podem refletir no desempenho dos animais hospedeiros (BUDIÑO, 2007) e, Silva et al. (2010) ao utilizarem probióticos (*Bifidobacterium bifidum*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum*) na dieta de porcas ao final da gestação, durante a lactação e na dieta de leitões após o desmame, constataram a eficácia na manutenção desempenho do animal, melhora nas condições histofisiológicas do trato gastrointestinal e diminuição da incidência de diarreia durante a fase de creche.

Budiño et al. (2005) observaram que a adição de probiótico (*Bacillus licheniformis* e *Bacillus subtilis*) à ração resultou em desempenho semelhantes dos leitões desmamados, ao serem comparados àqueles que receberam as dietas basal e com antibiótico. Os mesmos tratamentos não afetaram a incidência de diarreia. Devido ao aumento da quantidade de coliformes totais dos leitões submetidos aos tratamentos basal e antibiótico, os autores sugeriram que a adição do probiótico e/ou prebiótico na dieta, possivelmente, preveniu aumento da colonização intestinal por bactérias nocivas dos 7 para os 14 dias pós-desmame.

O uso de antimicrobianos (*Enterococcus faecium*, *Bacillus subtilis*, e *Bacillus licheniformis*) ou ácidos orgânicos fornecidos em água para leitões desmamados foi avaliado por Walsh et al. (2012a). Os tratamentos com probiótico e ácidos orgânicos não mostraram benefício contra *Salmonella*, todavia, houve efeito sobre a histologia intestinal e no transporte ativo de nutrientes. O tratamento com probióticos combinados ou não aos ácidos orgânicos, não beneficiou, especialmente, o epitélio intestinal ou o transporte ativo de íons, portanto, não melhoraram as características morfológicas do intestino; bem como não atenuaram os efeitos adversos associados com a patogenia da *Salmonella*. Nessa avaliação devido à ausência de efeito do antibiótico, os autores concluíram que o tempo de exposição ao desafio foi curto para produção de efeitos esperados.

Outras cepas de microorganismos são usadas como probióticos, visando-se a substituição dos antibióticos na alimentação de suínos. Ross et al. (2010) usaram *Lactobacillus amylovorus* e *Enterococcus faecium* em dieta de leitões em desmamados, visando avaliar resultados microbiológicos e histológicos. Concluíram que, a administração diária desses probióticos, como promotores de crescimento, podia substituir os antibióticos,

observando que houve menor proliferação de microorganismos indesejáveis no trato gastrintestinal.

Enfatizando a mesma substituição Gebru et al. (2010) constataram que o probiótico teve efeito similar ao antibiótico suínos em crescimento desafiados com *Salmonella enterica* e puderam constatar que os tratamentos com probiótico, tiveram o mesmo efeito de melhora no desempenho de crescimento que a dieta com antibiótico, principalmente, após os animais serem desafiados imunologicamente.

A utilização de bactérias em associação com leveduras como probiótico pode melhorar a digestibilidade e consumo da ração em suínos, como indicado por Robles-Huaynate (2008), em estudo com as seguintes espécies de bactérias e levedura: *Bacillus subtilis*, *B. natto*, *B. megaterium*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum*, *L. brevis*, *L. casei*, *Streptococcus lactis*, *S. faecalis*, *S. termophilus*, *Saccharomyces cerevisiae*. Com a inclusão de 200 ppm de probiótico nas dietas de suínos em crescimento, o autor concluiu que houve melhora no consumo e digestibilidade de ração e na capacidade de reduzir os desafios infecciosos dos animais após o desmame.

A associação de probiótico a prebiótico pode ser alternativa ao uso de antimicrobianos, assim demonstraram Junqueira et al. (2009), que concluíram que o uso de ração contendo simbiótico de probiótico e prebiótico (*Bacillus toyoi* e oligossacarídeos respectivamente) proporcionou melhores resultados de desempenho dos suínos no período de 28 a 142 dias de idade (a partir do desmame até a fase de terminação) e constituiu em alternativa viável economicamente ao uso de antibióticos na ração de nas fases de produção estudadas. Em contraponto, Chiquieri et al. (2007) não encontraram efeitos significativos sob a adição de probiótico (*Saccharomyces cerevisiae*) e prebiótico (mananoligossacarídeo) na dieta para suínos em crescimento e terminação sobre os componentes sanguíneos, nem sobre a altura das vilosidades.

3.1.1 Mecanismos de ação dos probióticos

Os meios de ação dos probióticos no trato gastrintestinal ainda não são bem definidos e, existem diversas explicações para a sua eficácia e seus benefícios no intestino. Alguns possíveis mecanismos explicam a eficácia do probiótico, como: exclusão competitiva,

antagonismo direto, estímulo ao sistema imune, neutralização de toxinas e competição pelo sítio de adesão (FULER, 1989; FULER; GIBSON, 1998). Segundo Jonsson e Conway (1992) os microrganismos probióticos são benéficos, pois competem por nutrientes e por locais de ligação no epitélio intestinal. Dessa competição, surgem metabólitos, como o ácido láctico e ácido acético, capazes de reduzir, seletivamente, o número de patógenos, tal mecanismo é conhecido como exclusão competitiva. A exclusão competitiva justificaria a necessidade da administração continuada e doses elevadas dos probióticos para caracterizar seus efeitos (SILVA et al., 2006).

As bactérias produtoras de ácido láctico são capazes de produzir substâncias antimicrobianas, como bacteriocinas e peróxido de hidrogênio (FOX, 1988; MILES, 1993). Segundo Fox (1988) e Miles (1993) a síntese concomitante do lactato reduz o pH intestinal, prevenindo a colonização por patógenos que modificam os processos metabólicos no intestino. Nas condições adversas, essas reações resultam em metabólitos tóxicos ou carcinogênicos e competem pelo substrato no uso das fontes energéticas. Assim, a microbiota normal e em equilíbrio no trato gastrointestinal atua como barreira defensiva ao animal, impedindo a fixação de patógenos.

Os probióticos ocupam os sítios de ligação da mucosa intestinal, onde poderiam estar as bactérias patogênicas, assim, as bactérias patogênicas seriam excluídas por competição de espaço. No intestino, os probióticos realizam rápida metabolização de substratos (açúcares, vitaminas, aminoácidos, proteínas), tornando-os indisponíveis aos patógenos e isso reduz suas proliferações (GATTÁS; BROMANO, 2009). Segundo os autores, além dos probióticos prevenirem a proliferação e sobrevivência de organismos patogênicos no trato gastrintestinal, há efeitos benéficos dos *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* no intestino aumentando a produção de anticorpos, na ativação de macrófagos, proliferação de células T e produção de interferon.

3.1.2 *Bacillus subtilis*

Bacillus spp. são bactérias gram positivas, em forma de bastonetes. A espécie *B. subtilis* é considerada benéfica na flora entérica de muitas espécies, tem atividades probióticas e favoráveis à saúde do suíno, em testes com ratos e em células epiteliais

humanas também mostraram que atuam na proteção celular (citoproteção) (OKAMOTO et al., 2012).

A capacidade de esporulação é citada como uma das vantagens do *Bacillus spp.* na elaboração de probióticos. Tal característica pode favorecer sua conservação durante o transporte e armazenagem, como também, a ação sobre as bactérias ácido lácticas, permitindo sua sobrevivência durante o trânsito estomacal (HOA et al., 2000).

B. subtilis é uma bactéria encontrada em vários locais, como na pele humana, dos animais, no aparelho digestivo, em feridas epiteliais, em extremidades do corpo humano e no solo (ARA et al., 2006; EARL, LOSICK; KOLTER, 2008), a sua presença em ambientes diversos, permite que essa bactéria se adapte e prolifere em grande número de microrganismos, suas moléculas são geneticamente codificadas e controlam o crescimento de outros organismos que podem ser prejudiciais aos animais (STEIN, 2005; LIU et al., 2010; GONZALEZ et al., 2011).

Além dos benefícios conhecidos dos probióticos, as bactérias do gênero *Bacillus* podem estimular a resposta imune e ser utilizadas como imunomoduladores, segundo Beliavskaia et al. (2001), porém a sua ação é pouco conhecida (COPOLA; TURNES, 2004)

Alguns estudos mostraram que o crescimento de determinado microorganismo pode ser limitado pela presença do *B. subtilis*. Em estudo com espectrofotometria de massa sobre a competição entre *B. subtilis* e *S. aureus*, Gonzalez et al. (2011) observaram que o *B. subtilis* inibiu o crescimento de *S. aureus* e expressão do fator de virulência. A partir de ensaios in vitro, e com dietas de leitões, Guo et al. (2006) avaliaram seis subespécies de *Bacillus subtilis*, e estas foram eficazes na atividade inibitória contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* K88, *E. coli* K99 e *S. typhimurium*. Ainda em simulação laboratorial, concluíram com o estudo que diferentes subespécies de *Bacillus spp.* têm resistência diferenciada no fluido gastrointestinal, os resultados positivos com o uso de *B. subtilis* foram confirmados no ensaio de desempenho, sendo o ganho de peso e conversão alimentar melhores quando comparado ao controle negativo e sem diferença significativa quando comparado ao antibiótico.

A associação de probióticos pode ser benéfica ao desempenho de suínos, devido ao probiótico determinar maior digestibilidade dos nutrientes, pois estes microorganismos competem com os sítios de ligação de microorganismos indesejáveis, segundo Silva et al. (2006) que avaliou o uso de *Bacillus subtilis* associado à *Pediococcus acidilactici* e detectou melhora na conversão alimentar de leitões desmamados em relação ao controle negativo.

Anteriormente Alexopoulos et al. (2004) relataram que a administração de esporos de *Bacillus licheniformis* e *B. subtilis* reduziram a mortalidade em leitões recém desmamados, melhoraram os parâmetros de desempenho e a qualidade da carcaça de suínos em fase de terminação. Parra et al. (2012) também observaram a melhora na qualidade da carne de suínos alimentados com a mesma combinação de probióticos, na fase de terminação. Neste estudo, apesar de não terem observado efeito nos níveis de colesterol, ocorreram algumas variações no perfil de ácidos graxos no fígado, na gordura subcutânea e no músculo serrátil ventral. A mesma associação de *Bacillus subtilis* e *B. licheniformis* em dietas de suínos em crescimento e terminação havia melhorado a eficiência alimentar, quando Davis et al. (2008) notaram também que a adição dos *Bacillus* ajudou na decomposição dos dejetos.

A associação *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces boulardi* e bactérias do ácido láctico foi positiva sobre os aspectos de ganho de peso, conversão alimentar e digestibilidade na fase de crescimento de suínos, em experimento conduzido por Giang et al. (2011). Na fase de terminação, houve maior limitação no desempenho e na utilização dos nutrientes da dieta.

Em dietas com diferentes energia e densidade nutricional, Meng et al. (2010) estudaram a influência de probióticos *Bacillus subtilis* e *Clostridium butyricum* e constataram o aumento do desempenho durante todo o experimento e efeitos benéficos sobre digestibilidade aparente total. A qualidade da carne foi melhorada quando os animais foram alimentados com dietas de alta energia e densidade de nutrientes.

A maior estabilidade do trato gastrointestinal e melhor recuperação pós-desmame foi observada em uma avaliação com o uso de *Bacillus subtilis*, plasma suíno (spray-dried), ácidos orgânicos associados e edulcorantes para leitões infectados com *Escherichia coli*, Bandhari et al. (2008) concluíram que a dieta com probiótico mostrou quedas nos escores de infecção e também a riqueza microbiana aumentou no intestino.

Em dieta baseada em milho e farelo de soja com inclusão de *B. subtilis*, Kornegay e Risley (1996) constataram aumento de esporos fecais do microrganismo, mas sem efeito sobre o número de coliformes ou de bactérias do ácido láctico. Concluíram que, não houve melhoria da digestibilidade da matéria seca, nitrogênio, componentes fibrosos e de cinzas ou na retenção de nitrogênio.

Respostas de suínos em crescimento a *Bacillus spp.* variaram em diversas avaliações experimentais, apresentadas por Turner et al. (2003) em revisão de alternativas aos antimicrobianos em dietas de suínos. Os mesmo autores constataram que a maioria das avaliações relatou melhorias na taxa de crescimento, na eficiência alimentar, na diminuição

da mortalidade e na incidência de diarreia na presença de *Escherichia coli* nas fezes, exceto para digestibilidade de nutrientes.

3.2 Produção de gás metano suinocultura

Além da preocupação com a segurança alimentar, o conceito de sustentabilidade da produção animal ganha força na escolha dos produtos e subprodutos advindos da agropecuária. Os produtos cárneos, oriundos de sistemas de produção animal, além dos benefícios nutricionais, agregam qualidades indiretas, como as condições de bem estar do animal e do próprio sistema no qual foi produzido. Essa qualidade indireta visa a preservação do ambiente e sua sustentabilidade (ZOTTI; PAULINO, 2009). Assim, a produção de suínos deve ser inserida nesse contexto, visando reduzir seu impacto ambiental.

O metano (CH_4) é um dos gases causadores do efeito estufa no planeta, pois tem capacidade de reter radiação infravermelha emitida pela superfície terrestre e o aumento da concentração desses gases provoca o aquecimento da superfície terrestre e destruição da camada de ozônio na atmosfera (BORGES; PASCHOAL, 2011). Segundo Zotti e Paulino (2009) é considerado o segundo maior contribuinte para o aquecimento da terra, ficando atrás somente do dióxido de carbono (CO_2).

O gás CH_4 , liberado em lixões, oceanos, áreas alagadas e de produção de arroz irrigado, queima de florestas e pecuária, possui potencial para retenção de radiação infravermelha equivalente a 25 vezes o estimado para CO_2 (BURKE; LASHOF, 1990). A contribuição da agricultura na emissão de metano nacional, segundo dados preliminares do Segundo Inventário Brasileiro das Emissões e Remoções Antrópicas de Gases de Efeito Estufa de 2009, foi de 71%, composta principalmente pela emissão entérica com 63,3% (54,1% pelo gado de corte, 7,4% pelo gado leiteiro e 1,9% pelas outras espécies), seguida pela emissão do manejo dos dejetos animais confinados, com 5,5%. (OLIVEIRA et al., 2011).

Com o passar do tempo os produtores encontraram algumas soluções para o armazenamento e tratamentos dos dejetos, uma delas foram as lagoas de estabilização. O uso deste sistema acabou reduzindo a poluição do solo e da água causada pelos efluentes rurais, no entanto, este sistema apresenta desvantagem de, emitir metano para a atmosfera. (UNFCCC, 2006; ORRICO JR. et al., 2011).

No Brasil existem poucos estudos de emissão de gases de efeito estufa nas produções de suínos e aves. Entre os poucos trabalhos existentes na área de suínos alguns são estudos de emissão de gás carbônico em solos adubados com dejetos de suínos e avaliações do potencial da redução de emissão através do uso de sistemas de tratamentos, tais como biodigestores (OLIVEIRA et al., 2011).

A maioria dos carboidratos é digerida por enzimas endógenas no intestino delgado, mas a fração de fibra dietética é fermentada primariamente na parte inferior do intestino, resultando numa produção de ácidos graxos de cadeia curta (acético, propiônico e butírico), gases (dióxido de carbono (CO_2), hidrogênio (H_2) e metano (CH_4)), uréia e calor (JORGENSEN; THEIL; KNUDSEN, 2011).

A contribuição da energia a partir da digestão microbiana é de considerável importância na maioria dos herbívoros e onívoros e esse aproveitamento se deve à degradação dos carboidratos, solúveis ou insolúveis, por enzimas microbianas, principalmente as hexoses. Independentemente da fonte de carboidrato (amido ou fibra) no alimento, as hexoses são metabolizadas pelas bactérias em AGV e gases que, são produtos finais dessa degradação (SWESON; REECE, 1996).

Segundo Monteny, Groenestein e Hilhorst (2001) a menor parte do metano eliminada pela criação de suínos é produzida no cólon, enquanto a maior parte provém dos seus dejetos e do armazenamento dos mesmos.

As características da dieta e produção de metano e dióxido de carbono podem ser correlacionadas. Jorgensen, Theil e Knudsen (2011) constataram a correlação negativa entre a fração protéica, lipídica, amido e correlação positiva para a fração fibrosa. Segundo os autores, o principal contribuinte da dieta para a emissão de CH_4 entérico foi a concentração de fibra, enquanto a fração lipídica não teve efeito, devido a sua elevada digestibilidade no intestino delgado. Assim, a melhor digestibilidade dos nutrientes pode proporcionar menor impacto ao meio ambiente, devido ao maior aproveitamento dos ingredientes.

4 MATERIAL E MÉTODO

4.1 Desempenho

O estudo de desempenho foi realizado nos meses de setembro a dezembro na Unidade Experimental de Suínos no Pólo Centro Sul, da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA-SAA SP), Tanquinho, São Paulo.

Sessenta suínos, com peso de $26,07 \pm 0,07$ kg, foram distribuídos em delineamento de blocos ao acaso, com três tratamentos e dez repetições. Os tratamentos foram dispostos em arranjo fatorial de 3 x 2 (níveis x sexo) e a unidade experimental foi constituída de um animal/baia. O primeiro fator considerado representou dietas: sem probiótico (controle negativo), com probiótico (*Bacillus subtilis*) e sem probiótico inclusão de antibiótico (controle positivo) (Tabela 1). O segundo fator representou o sexo (machos castrados e fêmeas). O probiótico utilizado é baseado em esporos viáveis de uma cepa não OGM (organismos geneticamente modificados) de *Bacillus subtilis* C-3102.

Os animais foram instalados em baias de 1,00 x 2,00 metros, com piso de concreto liso, divisórias metálicas, comedouros para abastecimento diário e bebedouros do tipo chupeta. O galpão experimental é de alvenaria, com pé direito de 3,40 metros, dispondo de janelas laterais basculantes para auxiliar no controle da ventilação e da temperatura ambiente.

O período experimental foi de oitenta e dois (82) dias. Foram efetuados controles para ganho de peso, conversão alimentar, e ganho de peso relativo a cada 14 dias e ao final de cada fase considerada (crescimento I = de 63 aos 90 dias de idade; crescimento II = de 91 aos 118 dias de idade e terminação = de 119 aos 145 dias de idade). Ao longo da avaliação foram tomadas temperaturas (°C) e umidades relativas diárias usando termômetros instalados na altura do piso das baias (Tabela 2).

As análises microbiológicas das fezes e da ração foram efetuadas no laboratório da Uniquímica e as análises bromatológicas de ração, urina e fezes para a avaliação de balanço nutricional foram realizadas no Laboratório de Bromatologia do Instituto de Zootecnia em Nova Odessa.

Tabela 1 - Ingredientes e composição nutricional das dietas experimentais

		Crescimento I			Crescimento II			Terminação		
Ingredientes		T1	T2	T3	T1	T2	T3	T1	T2	T3
Milho grão	%	69,40	69,35	69,37	73,40	73,35	73,37	76,87	76,82	76,84
Farelo de soja (46 %)	%	27,50	27,50	27,50	23,50	23,50	23,50	20,00	20,00	20,00
Óleo de soja	%	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
HCL- Lisina	%	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,13	0,13	0,13
Lincomicina	%		0,05			0,05		0,05		
Probiótico	%			0,03			0,03			0,03
Suplem. Vit./Min.	%	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Nutrientes										
Proteína Bruta	%	18,55	18,55	18,55	17,04	17,04	17,04	15,73	15,73	15,73
Fibra Bruta	%	2,98	2,98	2,98	2,82	2,82	2,82	2,68	2,68	2,68
Matéria Mineral	%	4,02	4,02	4,02	3,80	3,80	3,80	3,71	3,71	3,71
Cálcio	%	0,63	0,63	0,63	0,62	0,62	0,62	0,65	0,65	0,65
Fósforo Total	%	0,35	0,35	0,35	0,34	0,34	0,34	0,29	0,29	0,29
Fósforo Disponível	%	0,35	0,35	0,35	0,34	0,34	0,34	0,29	0,29	0,29
Sódio	%	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17	0,18	0,18	0,18
Energia Metabolizável	kcal/ kg	3272	3272	3272	3279	3279	3279	3286	3286	3286
Lisina Dig	%	0,92	0,92	0,92	0,83	0,83	0,83	0,75	0,75	0,75
Metionina Dig	%	0,28	0,28	0,28	0,26	0,26	0,26	0,24	0,24	0,24
Met+Cist+Dig	%	0,55	0,55	0,55	0,52	0,52	0,52	0,49	0,49	0,49
Triptofano Dig	%	0,19	0,19	0,19	0,17	0,17	0,17	0,15	0,15	0,15
Treonina Dig	%	0,60	0,60	0,60	0,55	0,55	0,55	0,51	0,51	0,51

T1 = tratamento sem probiótico (controle negativo); T2 = tratamento com probiótico (*Bacillus subtilis*) e T3 = tratamento sem probiótico inclusa de antibiótico (controle positivo); Crescimento I = de 63 aos 90 dias de idade; crescimento II = de 91 aos 118 dias de idade; terminação = de 119 aos 145 dias de idade); Suplem. Vit./Min.= suplemento vitamínico e mineral.

Tabela 2 - Temperatura (°C) e umidade relativa do ar, médias por semana do período experimental

Semana	T manhã (°C)	UR manhã	T tarde (°C)	UR tarde
1	24,30	56,00	27,00	52,00
2	25,57	63,71	26,59	61,71
3	23,63	71,29	24,00	72,29
4	23,68	61,00	24,91	63,43
5	23,99	63,71	24,82	66,50
6	24,27	64,35	25,46	65,94
7	24,19	69,57	26,64	64,14
8	24,22	66,21	25,00	69,11
9	25,32	63,64	26,32	62,10
10	24,89	68,82	26,11	67,51
11	25,00	71,83	26,24	68,98
12	25,62	66,40	26,47	66,96

T= temperatura média; UR= umidade relativa média

4.2 Balanço nutricional:

A determinação do balanço nutricional, através dos coeficientes digestíveis e metabolizáveis aparentes, ocorreram na Unidade Experimental de Suínos do Instituto de Zootecnia, do Governo do Estado de São Paulo, Secretaria de Agricultura e Abastecimento, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Nova Odessa, SP.

Na unidade de estudos de digestibilidade e metabolismo os animais foram instalados em gaiolas individuais, em estrutura metálica, com grades reguláveis para adequação de cada animal e comedouro para abastecimento manual de ração e água. Essa unidade, construída em alvenaria, possui dimensões de 20 x 6 metros, pé direito de 3 metros, fechado por todos os lados, com janelas tipo “vitreaux”, três unidades de condicionadores de ar, tipo “Split System”, modelo RAS 402CS + RAS 403AC, com condensação de ar e capacidade de 4,0 TR.

Foram utilizados doze suínos machos castrados em fase de crescimento, os animais foram pesados no início e no fim do experimento, tendo $26,55 \pm 1,21$ e $32,48 \pm 1,10$ kg respectivamente. Os animais foram distribuídos em blocos ao acaso e estiveram sob dois tratamentos: a dieta isenta de probiótico (controle negativo) e a dieta com probiótico (controle positivo) aplicadas em seis repetições. A unidade experimental foi constituída de um animal. O período experimental teve duração de doze (12) dias, dos quais, sete (7) foram de adaptação às instalações e às dietas e cinco (5) para coleta de fezes e urina.

Para possibilitar a coleta de fezes e urina dos animais o funil receptor de urina foi colocado na parte anterior e abaixo do animal, sob o qual foi colocado um balde plástico para receber a urina excretada. Abaixo do piso posterior da gaiola (ripado) e sobre o funil, havia um quadro retangular de madeira revestido de tela plástica, para filtrar a urina e reter as fezes que fossem eventualmente deslocadas do piso ripado. Abaixo do cocho foi colocada uma bandeja receptora de resíduos de ração. O material retido na bandeja era pesado como sobra para adequação da quantidade da dieta.

Os suínos receberam água à vontade e a ração foi dividida em dois tratos diários (as 08h00min e as 16h00min) até estabilizar o consumo máximo de cada animal. Decorridos a adaptação às gaiolas, os animais receberam a ração experimental contendo marcador fecal óxido férrico (Fe_2O_3) a 1%, para indicar o período de coleta. A quantidade de ração oferecida no período de coleta foi calculada subtraindo-se 10% do consumo máximo aferido durante o

período de adaptação, garantindo assim o pleno consumo do alimento, evitando sobras nos cochos. Foi realizada coleta de fezes e urina total, desse total foram amostrados 30% de fezes e 10% de urina de cada dia de coleta e o material total foi congelado.

Nas rações e fezes foram analisadas: matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), matéria mineral (MM) e energia bruta (EB) segundo AOAC (1980), e na urina foi analisada a energia bruta e nitrogênio. Os cálculos dos coeficientes de digestibilidade da energia, dos nutrientes e de metabolizabilidade da energia foram realizados segundo Trindade Neto et al. (2009).

Os resultados foram analisados utilizando o programa Sisvar 5.1 Build de análises estatísticas (FERREIRA, 2008).

4.3 Análise Econômica

A análise econômica foi baseada no consumo de ração de cada tratamento, gasto de probiótico e antibiótico nas fases de crescimento e terminação.

Os preços dos ingredientes das rações foram obtidos junto ao Centro de Estudos Avançados de Economia Aplicada (CEPEA-ESALQ/USP) para o mês de julho de 2012. Valores do suplemento mineral e vitamínico, antibiótico e probiótico junto a empresas fornecedoras, também referentes ao mês de julho de 2012.

As fórmulas utilizadas para os cálculos de cada tratamento são apresentadas a seguir, de acordo com Parazzi (2010) e Afonso (2011):

- Receita total (RT) = (Peso vivo médio dos animais X número de animais/ tratamento) X Preço do kg de animal vivo
- Custo total da dieta (CTD) = (custo da ração basal + custo do aditivo)

Com os valores de RT e CTD é possível calcular:

- Margem bruta do lote (MB) = RT – CTD
- Relação custo da dieta/ receita total = CTD/RT
- Participação do custo do aditivo sobre o custo total da dieta (PAD) = custo aditivo/ CTD
- Participação do aditivo sobre a receita total (PAR): custo do aditivo/ RT

Foram realizadas comparações entre o controle negativo versus controle positivo e dieta com probiótico. Para essas comparações, foi calculado a variação percentual do tratamento em relação ao controle para o custo total da dieta (CTD), a variação percentual da receita total (RT) e a variação das margens por quilograma, usando as seguintes fórmulas:

- $(CTDa - CTDb)/CTDb$
- $(RTa - RTb)/RTb$
- $(MBa - MBb)/MBb$

Sendo “a” referente ao uso de probiótico ou antibiótico e “b” ao da dieta controle negativo.

4.4 Desempenho nas condições de granja

A avaliação ocorreu em granja comercial de ciclo completo, em situação de desafio imunológico crônico, no município de Limeira-SP, nos meses de março a maio. O período experimental foi de 70 dias, de acordo com o cronograma da granja.

Foi avaliado o desempenho dos suínos nas fases de crescimento e terminação, quando receberam dietas contendo antibiótico, antibiótico e probiótico e outra apenas com probiótico. Foram usados 30 machos castrados e 30 fêmeas, meio irmãos daqueles segregados para avaliação nas condições experimentais, com peso de $26,06 \pm 3,10$ kg. A distribuição dos animais nos tratamentos foi inteiramente casualizada.

Os animais foram instalados em galpão de alvenaria com pé-direito de 3,80 m e telhas de barro. Possuía baias para 12 animais (seis fêmeas e seis machos castrados), com piso de concreto liso e uma parte de piso ripado. As baias eram equipadas de comedouros semi-automáticos com capacidade para 100 kg de ração farelada e os bebedouros tipo chupeta.

Nessa etapa, visou-se avaliar e comparar os efeitos da inclusão dietética do probiótico para as crônicas e constantes do desafio imunológico imposto pelo sistema comercial de produção das granjas com ciclo completo, contra aqueles obtidos nas condições de segregação experimental. Foi avaliado o ganho de peso dos suínos e ao fim da fase de terminação foram coletadas fezes para determinação de produção de metano.

4.5 Avaliação de metano nas fezes

A coleta foi realizada no fim da fase de terminação, quando os animais testados em granja comercial recebiam as dietas contendo: antibiótico, antibiótico com probiótico e probiótico. No momento da coleta, foi aferido o pH das fezes utilizando-se um pHmetro.

Todos os frascos de vidro para as amostras das fezes foram, previamente, lavados com água, enxaguados com água destilada e secos em estufa a 45°C. As amostras de fezes foram divididas em frações de 10g para serem colocadas em cada frasco com ajuda de um funil e um bastão fino de ferro. Os frascos foram tampados com rolha de borracha e lacrados com lacres de alumínio, usando-se um alicate de recrave, em seguida, identificados com selos de segurança, SLI-PP com 16 cm, produzidos em polipropileno, numerados e personalizados em hot-stamping (até 8 dígitos). Uma vez lacrados, removeu-se o ar atmosférico de cada frasco e adicionou-se dióxido de carbono (CO₂), seguindo-se a estabilização da pressão no interior do frasco. A injeção de CO₂ (“lavagem”) tem por finalidade a expulsão de todo ar atmosférico contido no frasco, a fim de se evitar prejuízo à população microbiana anaeróbia.

As amostras foram incubadas em banho termostático a 39°C, por 30min, depois submetidas a calor sob pressão, durante 15min, a fim de bloquear a atividade microbiana na amostra. Decorrido os 15min, aguardou-se o resfriamento e a despressurização para retirada dos frascos.

A mensuração de metano, pressão e volume, foi realizada em ambiente à 25°C. Assim que a temperatura das amostras estabilizou a 25°C, foi amostrado 0,5 ml do gás em cada frasco e injetado no cromatógrafo. Utilizou-se seringa especial para amostras gasosas com capacidade para 1000 µl (Seringa do tipo Gas-Tight. A calibração do cromatógrafo foi realizada com material de referência padrão (mistura gasosa composta por 4% metano e 96% de ar atmosférico), partindo de uma mistura gasosa, com 50% de metano em ar sintético. O gás de arraste foi o N₂ de alta pureza, mantido em fluxo de 30ml/minuto.

As análises de metano e mensuração de pressão e volume das amostras foram obtidas por Cromatografia Gasosa no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Nutrição e Produção Animal da FMVZ-USP em Pirassununga-SP, após permanecerem em temperatura média de 25°C.

O equipamento empregado foi o de cromatografia gasosa modelo Finnigan 9001 gas chromatograph. A leitura da pressão e o volume produzido foram realizados com a ajuda do

transdutor (Datalogger universal• - modelo logger AG100) conectado a um leitor digital. A técnica utilizada foi baseada na metodologia de mensuração e produção de metano desenvolvida no Departamento de Nutrição e Produção Animal da FMVZ-USP em Pirassununga-SP por Rodrigues et al. (2012).

A quantificação do gás metano produzido foi expressa pela relação entre o volume dos frascos e a concentração de metano, quantificada por cromatografia gasosa. Sendo assim, obteve que:

$$Q_{met} (mg) = Volume\ total (ml) \times Conc.\ met (mg/ml)$$

Onde:

Q_{met} : massa de metano produzida entre a colocação das fezes no frasco de até o momento da inativação por pressão;

Volume total: somatória entre o volume do total do frasco de fezes e de gás;

Conc. Met.: concentração de metano mensurada pelo cromatógrafo a gás, fazendo-se as devidas correções para as condições de pressão e temperatura locais.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Desempenho

Como era esperado o efeito de sexo ($P < 0,01$) ficou evidenciado nas médias do ganho de peso diário, conversão alimentar e consumo de ração, em todas as fases do desenvolvimento (crescimento I, crescimento II e terminação) analisadas e os machos castrados tiveram maior ganho de peso, comparados às fêmeas (Tabela 3).

Na fase de crescimento II, correspondente ao período dos 91 aos 118 dias de idade, as fêmeas submetidas à dieta controle negativo (sem aditivo) tiveram maior ganho de peso ($P = 0,02$) que as do controle positivo (com antibiótico). Comparando-se o ganho de peso das fêmeas do controle negativo àquelas que consumiram a dieta com *Bacillus subtilis*, não houve diferença significativa. O ganho de peso das fêmeas alimentadas com a adição de probiótico comparado ao das fêmeas alimentadas com adição de antibiótico não obteve diferença significativa (Tabela 3). O mesmo aconteceu para a variável de consumo diário de ração nas fases de crescimento I ($P = 0,04$) e crescimento II ($P = 0,02$), não havendo diferenças entre os tratamentos controle negativo e com *Bacillus subtilis*. Na conversão alimentar das fêmeas não ficou caracterizado diferenças entre os tratamentos.

Tabela 3 - Desempenho de suínos nas fases de crescimento e terminação recebendo dietas com ou sem antibiótico e probiótico

	Fêmeas			Machos			Média		P	P	EP	CV(%)
	T1	T2	T3	T1	T2	T3	Fêmeas	Machos	fêmea	macho		
GDP												
Cr I	0,848	0,750	0,793	0,839	0,847	0,898	0,797b	0,862a	0,0917	0,3564	0,0311	11,25
Cr II	0,912a	0,804b	0,868ab	0,922	0,952	0,995	0,862b	0,957a	0,0022	0,1567	0,0269	8,27
Term.	0,895	0,864	0,868	1,019	1,063	0,996	0,876b	1,026a	0,7357	0,3014	0,0310	9,79
CDR												
Cr I	1,905a	1,701b	1,791ab	1,951	1,983	2,032	1,799b	1,988a	0,0485	0,6050	0,0572	9,07
Cr II	2,194a	1,951b	2,074ab	2,538	2,350	2,443	2,073b	2,376a	0,0232	0,3990	0,0603	8,13
Term.	2,548	2,443	2,485	3,088	3,206	2,967	2,492b	3,087a	0,7656	0,2633	0,5915	11,02
CA												
Cr I	2,253	2,256	2,296	2,345	2,345	2,277	2,268	2,322	0,8671	0,6733	0,0629	8,22
Cr II	2,410	2,438	2,387	2,538	2,476	2,462	2,412	2,429	0,7903	0,5434	0,0522	6,39
Term.	2,859	2,839	2,867	3,026	3,027	2,979	2,855b	3,011a	0,9672	0,8834	0,0766	7,84

Letras diferentes nas mesma linha difere entre si ($P < 0,05$), pelo teste de tukey. T1= Controle negativo; T2= Controle positivo; T3= Probiótico. Cr I = de 63 aos 90 dias de idade; Cr II = de 91 aos 118 dias de idade; Term. = de 119 aos 145 dias de idade. GDP (ganho diário de peso) e CDR (consumo diário de peso) em quilogramas

Avaliando o desempenho dos suínos, independentemente do sexo, se observa que a variação numérica na conversão alimentar sugere melhor resultado com o uso da dieta contendo o probiótico (T3) testado (Tabela 4).

Tabela 4 - Desempenho de suínos nas fases de crescimento e terminação recebendo dietas com ou sem antibiótico e probiótico

Variáveis	T1	T2	T3	P	EP	CV (%)
GPD						
Cresc. I	0,844	0,799	0,845	0,2482	0,0220	11,25
Cresc.II	0,917	0,878	0,932	0,1328	0,0190	8,27
Term.	0,957	0,963	0,932	0,5604	0,0219	9,79
CDR						
Cresc. I	1,928	1,842	1,911	0,2873	0,0405	9,07
Cresc.II	2,265	2,151	2,259	0,1136	0,0426	8,13
Term.	2,818	2,824	2,726	0,5661	0,0724	11,02
CA						
Cresc. I	2,299	2,321	2,266	0,6849	0,4444	8,22
Cresc.II	2,474	2,457	2,424	0,6264	0,0369	6,39
Term.	2,942	2,933	2,923	0,6969	0,0542	7,84

P<0,05, pelo teste tukey; T1= Controle negativo; T2= Controle positivo; T3= Probiótico. Crescimento I = de 63 aos 90 dias de idade; Crescimento II = de 91 aos 118 dias de idade; Terminação = de 119 aos 145 dias de idade. GDP (ganho diário de peso) e CDR (consumo diário de peso) em quilogramas

Quando se analisou o período total experimental (dos 63 aos 145 dias de idade) houve maior ganho de peso diário ($P = 0,04$) nos animais submetidos à dieta de controle negativo e na dieta com *Bacillus subtilis*, seguido pelo tratamento com antibiótico em fêmeas (Tabela 5).

Tabela 5 - Desempenho de suínos no período total de experimento (crescimento e terminação) recebendo dietas com ou sem antibiótico e probiótico

	Fêmeas			Machos			Médias					
	T1	T2	T3	T1	T2	T3	Fêmeas	Machos	P fêmea	P macho	EP	CV (%)
GPD	0,907a	0,824b	0,868ab	0,936	0,989	0,995	0,866b	0,979a	0,0444	0,3855	0,0229	7,44
CDR	2,310	2,113	2,209	2,584	2,632	2,616	2,211b	2,611a	0,1036	0,8692	0,0643	8,00
CA	2,550	2,572	2,544	2,707	2,669	2,630	2,555b	2,669a	0,9127	0,5233	0,0481	5,53

Letras diferentes na mesma linha diferem entre si ($P < 0,05$). T1= Controle negativo; T2= Controle positivo; T3= Probiótico. Animais de 63 a 145 dias de idade. GDP (ganho diário de peso) e CDR (consumo diário de peso) em quilogramas

Quando foi avaliado o desempenho dos suínos, independentemente do sexo, no período total de experimento (crescimento e terminação), não houve diferença significativa, porém, a variação numérica continuou indicando melhores ganhos diários de peso e conversão alimentar em animais submetidos ao tratamento com probiótico (Tabela 6), Giang e colaboradores (2011) utilizaram *Bacillus subtilis* e *Saccharomyces boulardi* na alimentação de suínos em crescimento e terminação e obtiveram efeitos positivos no desempenho na fase de crescimento e concluíram que os efeitos menores, ou nenhum efeito, na fase de terminação de suínos se deve à microbiota intestinal ser mais estável. Observando ainda que o estado imunológico do suíno à terminação e sua eficiência na digestão dos alimentos é maior que no leitão desmamado.

Tabela 6 - Desempenho de suínos no período total de experimento (crescimento e terminação) recebendo dietas controle negativo, com antibiótico e com probiótico

Variáveis	T1	T2	T3	P	EP	CV (%)
GPD	0,9302	0,9062	0,9318	0,4632	0,0162	7,44
CDR	2,4473	2,3724	2,4125	0,5120	0,0455	8,00
CA	2,6286	2,6024	2,5869	0,6592	0,0340	5,53

Letras diferentes na mesma linha diferem entre si ($P < 0,05$), pelo teste de tukey. T1= Controle negativo; T2= Controle positivo; T3= Probiótico. Animais de 63 a 145 dias de idade. GDP (ganho diário de peso) e CDR (consumo diário de peso) em quilogramas

5.2 Avaliação microbiológica

Na tabela 7 são apresentados os dados da avaliação microbiológica da ração coletada nos comedouros, quando os animais se encontravam nas fases de crescimento I, crescimento II e terminação (de 63 aos 90 dias de idade; de 91 aos 118 dias de idade e de 119 aos 145 dias de idade respectivamente). Foi efetuada a contagem de *Bacillus subtilis* por grama de ração, em diferentes dias de coleta (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7) e as análises foram realizadas do modo de contagem padrão de microrganismos.

A contagem de microrganismos da ração com antibiótico e com probiótico estavam dentro do esperado, com pequena variação da ração com probiótico, em relação à referência. Porém, numa das amostras da ração do controle negativo houve alteração na quantidade de unidades formadoras de colônia por grama de ração ($4,9E+2,0$), o que pode ter sido causado por contaminação cruzada.

Tabela 7 - Contagem de *Bacillus subtilis* na ração através de avaliação microbiológica

Coleta	Controle		Antibiótico		Probiótico		Referência	
	UFC/g	Log 10	UFC/g	Log 10	UFC/g	Log 10	UFC/g	Log 10
1	ND	ND	ND	ND	3,5E+0,5	5,54	3,0E+0,5	5,48
2	4,9E+2,0	2,69	ND	ND	2,9E+0,5	5,46	3,0E+0,5	5,48
3	ND	ND	ND	ND	2,7E+0,5	5,43	3,0E+0,5	5,48
4	ND	ND	ND	ND	3,6E+0,5	5,56	3,0E+0,5	5,48
5	ND	ND	ND	ND	3,5E+0,5	5,55	3,0E+0,5	5,48
6	ND	ND	ND	ND	2,8E+0,5	5,45	3,0E+0,5	5,48
7	ND	ND	ND	ND	2,6E+0,5	5,41	3,0E+0,5	5,48

UFC/g= unidades formadoras de colônia por grama de amostra. ND= não detectado

Na tabela 8 são apresentados os dados do resultado de avaliação microbiológica das fezes dos suínos, feitos em três controles: na fase de crescimento I, na fase de crescimento II e na fase de terminação. Foram avaliadas as quantidades de unidades formadoras de colônia por grama de fezes dos microrganismos *Enterobacteriaceae*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus* e quantidade total de bactérias anaeróbicas.

Na identificação e contagem dos microrganismos nas fezes não houve diferença significativa de *Enterobacteriaceae*, *Lactobacillus* e do total de bactérias anaeróbicas para os três tratamentos testados nas fases crescimento I, crescimento II e terminação. Anteriormente também houve ausência de alteração dessas populações em decorrência da administração de probióticos para suínos (SCHAREK et al., 2005; WALSH et al., 2008; NOGUEIRA et al., 2012). Por outro lado, houve relatos de aumento da população de *Lactobacillus* presentes nas

fezes de suínos desmamados, tratados com probióticos, bem como decréscimo do grupo das *Enterobacteriaceae* (DE ANGELIS et al., 2007).

Como esperado, a contagem de *B. subtilis* foi superior na dieta contendo este probiótico. Porém, na identificação e contagem fecal de *C.perfringens* foi observado alteração de 4,05 UFC/g (log) na fase de crescimento II, em uma das sete amostras fecais dos animais que utilizaram dieta com probiótico. Ao contrário do que demonstrou em estudo in vitro, quando o *B. subtilis* apresentou ação inibitória contra *C.perfringens* (YEOW; HAI, 2005) e também em fêmeas no 14º dia de lactação a presença do probiótico também diminuiu a contagem de *C.perfringens* (BARROS et al., 2011).

Tabela 8 - Contagem de microorganismos nas fezes de suínos nas fases de crescimento I, crescimento II e terminação

	<i>Enterobacteriaceae</i> UFC/g(log)	<i>C. perfringens</i> UFC/g(log)	<i>Bacillus subtilis</i> UFC/g(log)	<i>Lactobacillus</i> UFC/g(log)	Total bact. anaerobicas
Cresc. I					
Cont.role	6,11±0,88 (7/7)	ND (0/7)	-	9,12±0,18 (7/7)	10,22±0,26 (7/7)
Antibiótico	5,85±1,12 (7/7)	ND(0/7)	-	9,10±0,28	10,01±0,31 (7/7)
Probiótico	5,94±1,35 (7/7)	ND (0/7)	-	8,98±0,21 (7/7)	10,06±0,23 (7/7)
Cresc. II					
Controle	5,98±1,05 (7/7)	ND (0/7)	2,03 ND 0,01 (5/7)	8,48±0,46 (7/7)	9,91±0,24 (7/7)
Antibiótico	6,18±0,42 (7/7)	ND (0/7)	2,53 ND 0,53 (5/7)	8,61±0,30 (7/7)	10,08±0,33 (7/7)
Probiótico	6,23±0,49 (7/7)	4,05± - (1/7)	5,42 ND 0,12	8,58±0,44 (7/7)	10,15±0,24 (7/7)
Terminação					
Controle	5,69±0,49 (7/7)	ND (0/7)	3,13 ND 0,16 (6/7)	8,46±0,34 (7/7)	9,88±0,37 (7/7)
Antibiótico	6,92±1,13 (7/7)	ND (0/7)	3,71 ND 1,25 (5/7)	8,21±0,40 (7/7)	9,96±0,32 (7/7)
Probiótico	6,54±0,33 (7/7)	ND (0/7)	5,68 ND 0,07 (7/7)	8,49±0,34 (7/7)	9,63±0,48 (7/7)

Controle = dieta isenta de antibiótico ou probiótico. Cresc. I = de 63 aos 90 dias de idade; Cresc. II= de 91 aos 118 dias de idade; Terminação = de 119 aos 145 dias de idade UFC/g = unidades formadoras de colônia por grama. Média±desvio; *C. perfringens*: U= incontável (>aprox 6.3 CFU-log/g); ND = não detectado (< aprox 2.3 UFC-log/g); *Bifidobacterium*: ND = não detectado(< aprox 5.3 UFC-log/g)

De um modo geral o uso do probiótico na dieta não afetou significativamente as contagens de populações microbianas nas fezes durante as fases de crescimento e terminação.

5.3 Balanço Nutricional

Os resultados de digestibilidade aparente são apresentados na tabela 9, quando comparada a dieta controle (sem probiótico e sem antibiótico) contra a dieta com probiótico.

Observou-se o efeito favorável do probiótico testado na menor excreção de proteína bruta em fezes ($P = 0,012$) e digestibilidade da proteína nas fezes ($P = 0,013$). Há indicação de efeito positivo ($P = 0,070$) na variável de matéria seca digestível (%) para o tratamento com probiótico, em relação ao controle negativo, limitado pelo coeficiente de variação, contudo, os valores numéricos sugerem melhor resposta do probiótico. O mesmo ocorreu com a variável de energia digestível ($P = 0,070$) e relação energia digestível/ energia bruta, sugerindo melhores resultados ($P = 0,060$) para o tratamento com o probiótico. Komegay e Risley (1996) observaram discretas melhorias nas digestibilidades da matéria seca digestível, da proteína bruta digestível e da matéria mineral de suínos em fase de terminação alimentados com dietas contendo *Bacillus spp.* em comparação a dietas sem o probiótico. Rowland (1992), Jin et al. (2000) e Leedle (2000) justificaram esses efeitos positivos de certas espécies de microrganismos (probióticos) por serem capazes de secretar amilase, protease e lipase que podem favorecer a digestão do alimento.

Nos demais parâmetros analisados (matéria seca ingerida, matéria seca excretada, proteína bruta ingerida, proteína metabolizável, energia metabolizável, relação energia metabolizável/ energia digestível e balanço energético) não houve diferença estatística entre os dois tratamentos utilizados.

Tabela 9 - Balanço nutricional em suínos na fase de crescimento alimentados com dieta controle (sem probiótico ou antibiótico) e dieta com probiótico (*Bacillus subtilis*)

Variáveis	Controle Negativo	Probiótico	CV %	P
Matéria seca ingerida (g)	3478,50	3473,27	3,07	0,9339
Matéria seca excretada (g)	683,43	621,22	8,76	0,0887
Matéria seca digestível (%)	80,35	82,12	1,85	0,0697
Proteína bruta ingerida (g)	752,72	752,63	3,07	0,9951
Proteína bruta excretada nas fezes (g)	187,07a	165,10b	7,07	0,0121
Proteína digestível (%)	75,12a	78,07b	2,22	0,0131
Proteína metabolizável (%)	70,27	70,21	3,08	ns
Energia digestível (kcal/g)	3562,10	3463,60	1,91	0,0676
Energia metabolizável (kcal/g)	3439,17	3495,87	2,21	0,2299
Relação energia metabolizável/ energia digestível (%)	96,55	95,92	0,71	0,1400
Relação energia digestível/energia bruta (%)	79,07	80,97	1,93	0,0593
Balanço energético (kcal/g)	1993,78	2023,50	3,57	0,4896

Ao analisar a digestibilidade, observou-se que a presença de probiótico na dieta foi favorável na melhora da digestibilidade aparente da proteína, sugerindo também melhor digestibilidade da matéria seca, da energia e da relação energia digestível: energia bruta.

5.4 Avaliação Econômica

Nas tabelas 10, 11, 12 e 13 são apresentados os indicadores econômicos nas fases de crescimento I, crescimento II e terminação e do período experimental total (crescimento I à terminação).

Analisando o custo total da dieta (CTD), o tratamento controle negativo (dieta sem antibiótico e sem probiótico) foi o tratamento de menor custo nas fases de crescimento I e II, seguido pelo controle positivo (antibiótico) e probiótico. Na fase de terminação o CTD mais alto se deu no tratamento com antibiótico, enquanto o menor se deu com probiótico, seguido do tratamento controle negativo.

A receita total (RT) do lote na fase de crescimento I e terminação foi superior no tratamento de controle positivo (antibiótico), seguido do controle negativo e posteriormente pelo probiótico. Na fase de crescimento II a RT também foi superior com o controle positivo, seguida do probiótico e do controle negativo.

Em todas as fases avaliadas, a relação CTD/RT, que representa a porcentagem do custo total da dieta sobre a receita do lote, foi superior no tratamento com probiótico, o tratamento com *Bacillus subtilis* influenciou mais o custo total da dieta sobre a receita que o tratamento com antibiótico.

A participação do custo do aditivo/custo da dieta, participação do custo do aditivo/receita total, variação de CTD, variação de RT, variação das margens por kg, não apresentam valores na tabela para a dieta controle negativo, pois essa dieta não recebeu aditivos.

A participação do custo aditivo/custo da dieta e participação do custo aditivo/receita total na fase de crescimento teve um impacto maior sob a dieta contendo probiótico, comparada a dieta com o antibiótico nas fases de crescimento I e II. Porém, na fase de terminação o custo aditivo/custo da dieta e participação do custo aditivo/receita total foi mais favorável à dieta com o probiótico do que à dieta com antibiótico.

Analisando a viabilidade econômica, a dieta contendo antibiótico se mostrou mais indicada que a dieta com probiótico em todas as fases analisadas, devido à maior margem bruta por quilograma de peso vivo de suíno, porém houve pequena diferença entre os três tratamentos.

A variação porcentual das margens brutas por quilograma foi pequena, em relação ao controle negativo, nas fases analisadas. Esses resultados sugerem que o impacto econômico não é substancial, caso se opte pelo uso do probiótico na dieta em função dos seus efeitos aditivos benéficos, sobretudo na fase de crescimento II (-0,23%).

Parazzi (2010) utilizou leitões desmamados até a fase de terminação desafiados com *Salmonella Typhimurium*, pesquisando os efeitos de probióticos associados na dieta, na avaliação de desempenho associada aos aspectos econômicos, o probiótico associado de *Bacillus subtilis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus lactis*, dentre os tratamentos, mostrou-se mais viável, com a administração até 44 e 65 dias de idade dos leitões.

Avaliando a inclusão de aditivos sobre o custo da dieta, Afonso (2011) usou diferentes associações de probióticos no aleitamento e creche em leitões desafiados com *Salmonella Typhimurium*. Concluiu que associação de *Bacillus subtilis* e *B. Toyoi* apresentou menor custo, se mostrando como alternativa econômica satisfatória.

Tabela 10 - Indicadores econômicos na fase de crescimento I de suínos

Indicador econômico		Controle negativo	Antibiótico	Probiótico
Custo total da dieta do lote(CTD)	R\$	734,91	742,68	761,99
Receita total do lote (RT)	R\$	2008,88	2050,32	2001,61
Relação CTD/RT	%	36,58	36,22	38,07
Margem bruta do lote (MB)	R\$	1273,97	1307,64	1239,62
Peso médio do lote	kg	48,72	47,24	48,55
Margem bruta por kg	R\$/kg	26,15	27,68	25,53
Participação do custo aditivo/custo da dieta	%	0,00	1,05	3,55
Participação do custo aditivo/receita total	%	0,00	0,38	1,35
Variação CTD (com controle)	%	0,00	1,06	3,68
Variação RT (com controle)	%	0,00	2,06	-0,36
Variação das margens por kg (com controle)	%	0,00	5,86	-2,34

. Crescimento I = de 63 aos 90 dias de idade

Tabela 11 - Indicadores econômicos na fase de crescimento II de suínos

Indicador econômico		Controle negativo	Antibiótico	Probiótico
Custo total da dieta do lote(CTD)	R\$	781,40	785,71	791,97
Receita total do lote (RT)	R\$	3124,58	3199,67	3144,76
Relação CTD/RT	%	25,01	24,56	25,18
Margem bruta do lote (MB)	R\$	2343,18	2413,95	2352,80
Peso médio do lote	kg	75,78	73,73	76,27
Margem bruta por kg	R\$/kg	30,92	32,74	30,85
Participação do custo aditivo/custo da dieta	%	0,00	0,55	1,33
Participação do custo aditivo/receita total	%	0,00	0,13	0,34
Variação CTD (com controle)	%	0,00	0,55	1,35
Variação RT (com controle)	%	0,00	2,40	0,65
Variação das margens por kg (com controle)	%	0,00	5,90	-0,23

Crescimento II = de 91 aos 118 dias de idade

Tabela 12 - Indicadores econômicos na fase de terminação de suínos

Indicador econômico		Controle negativo	Antibiótico	Probiótico
Custo total da dieta do lote (CTD)	R\$	984,11	1050,60	1009,30
Receita total do lote (RT)	R\$	4185,93	4303,76	4148,11
Relação CTD/RT	%	23,51	24,41	24,43
Margem bruta do lote (MB)	R\$	3201,82	3253,16	3138,81
Peso médio do lote	kg	101,53	99,17	100,61
Margem bruta por kg	R\$/kg	31,54	32,81	31,20
Participação do custo aditivo/custo da dieta	%	0,00	6,33	2,50
Participação do custo aditivo/receita total	%	0,00	1,54	0,61
Variação CTD (com controle)	%	0,00	6,76	2,56
Variação RT (com controle)	%	0,00	2,81	-0,90
Variação das margens por kg (com controle)	%	0,00	4,02	-1,07

Terminação = de 119 aos 145 dias de idade

Tabela 13 - Indicadores econômicos na fase de crescimento I à terminação de suínos

Indicador econômico		Controle negativo	Antibiótico	Probiótico
Custo total da dieta do lote(CTD)	R\$	2500,43	2579,00	2563,25
Receita total do lote (RT)	R\$	4185,93	4303,76	4148,11
Relação CTD/RT	%	59,73	59,92	61,79
Margem bruta do lote (MB)	R\$	1685,50	1724,76	1584,86
Peso médio do lote	kg	101,53	99,17	100,61
Margem bruta por kg	R\$/kg	16,60	17,39	15,75
Participação do custo aditivo/custo da dieta	%	0,00	3,05	2,45
Participação do custo aditivo/receita total	%	0,00	1,83	1,51
Variação CTD (com controle)	%	0,00	3,14	2,51
Variação RT (com controle)	%	0,00	1,88	1,50
Variação das margens por kg (com controle)	%	0,00	4,77	-5,11

Crescimento I à terminação = de 63 aos 145 dias de idade

5.5 Desempenho em granja

O desempenho dos suínos nas condições da granja é apresentado na tabela 14. Foi avaliado o desempenho na fase de crescimento I ao final da terminação sobre influência de dois tratamentos, um com antibiótico e outro apenas com probiótico.

Da mesma forma que ocorreu nas condições experimentais, quando os animais foram segregados, houve diferença entre o peso de fêmeas e machos castrados na fase de

crescimento ($P < 0,01$) e terminação ($P < 0,01$), sendo a média de peso menor para as fêmeas.

Comparando-se os tratamentos com antibiótico e com probiótico não houve diferenças estatísticas nas variáveis peso final em todas as fases avaliadas. A ausência de efeitos dos aditivos no desempenho dos animais, provavelmente, foi influenciada pela idade dos suínos testados. Segundo Gaggia, Mattarelli e Biavati (2010) e Giang et al. (2011) durante o início da vida, os padrões de colonização são instáveis e animais recém-nascidos são suscetíveis a patógenos ambientais. Animais mais maduros têm a microbiota bem estabelecida e estabilizada, o que confere maior adaptação ao animal. A colonização inicial é de grande importância para o hospedeiro, porque as bactérias são capazes de modular a expressão de genes em células epiteliais, criando assim um habitat favorável para elas mesmas.

O GPD dos animais na fase de crescimento II submetidos ao tratamento com probiótico foi superior ($P = 0,049$) aos animais submetidos ao tratamento com antibiótico.

Tabela 14 - Desempenho de suínos (machos castrados e fêmeas) sob condições de granja submetidos a dietas com antibiótico e com probiótico (*Bacillus subtilis*)

Variáveis (kg)	Antibiótico	Probiótico	Macho	Fêmea	P trat	P sexo	P trat*sexo	CV %
Peso inicial	25,32	26,79	26,24	25,87	0,0814	0,6554	0,4321	10,96
Peso Final do Cresc. I	50,29	51,49	51,95	49,83	0,3657	0,1126	0,8651	8,93
Peso final do Cresc. II	63,43	66,10	67,33a	62,20b	0,1094	0,0031	0,8396	8,76
Peso final Terminação	88,08	91,04	94,12a	85,00b	0,2252	0,0005	0,3388	9,31
GPD								
Cresc. I	0,925	0,915	0,952	0,887	0,7622	0,5480	0,6319	12,40
Cresc. II	0,821b	0,913a	0,961a	0,773b	0,0481	0,0002	0,8812	18,12
Terminação	0,913	0,924	0,992a	0,844b	0,8227	0,0029	0,1220	17,67
Cresc. I ao Cresc. II	0,886	0,914	0,956a	0,845b	0,3232	0,0003	0,7911	10,79
Cresc. I a Terminação	0,897	0,918	0,970a	0,845b	0,4815	0,0001	0,4296	11,45

Letras diferentes na mesma linha diferem entre si ($P < 0,05$), pelo teste de tukey. GDP (ganho diário de peso) em quilogramas. Cresc I (dos 63 aos 90 dias de idade), cresc II (dos 91 aos 105 dias de idade), terminação (dos 106 aos 131 dias de idade)

Ao comparar os animais avaliados nas duas condições experimentais (segregados e na granja comercial), na fase de crescimento I os GDP dos animais submetidos à dieta com antibiótico e probiótico, foram inferiores na condição experimental segregada (12,6 e 7% respectivamente). Inversamente, sob condição de segregação, na fase de crescimento II, os

animais tiveram GPD superior e, para os suínos que consumiram dieta com antibiótico essa diferença foi 5,7 %. O mesmo ocorreu na fase de terminação, quando os animais alimentados com antibiótico tiveram GPD 5% superior em condição de segregação.

5.6 Avaliação de Metano

Na tabela 15 e figuras 1 e 2, encontram-se as médias de produção de metano (em mMol/kg/h e mg/kg/h) nos tempos de 24, 48, 96 e 168 h após a coleta na fase de terminação.

Na tabela 16, são apresentadas as médias do pH fecal no momento da coleta.

Como esperado, a produção de metano em todos os tratamentos diminuiu, na medida em que aumentou o tempo medido após a coleta das fezes. Em suínos tratados com probiótico nos tempos testados de 24, 48, 96 e 168 h após a coleta de fezes a produção de metano foi inferior, em comparação aos que receberam as dietas com probiótico e antibiótico. O tratamento com antibiótico resultou em maior produção de metano nas fezes.

A produção de metano fecal pode indicar a maior ou menor eficiência da ação microbiológica intestinal sobre a digesta. Essa ação, por sua vez, depende do equilíbrio da microbiota local. Os dados, ao indicarem que a dieta contendo probiótico teve menor produção de metano que os demais tratamentos, sugerem maior eficiência na digestão pós-ileal, provavelmente, implicando em maior aproveitamento da energia para os enterócitos, na segunda porção do intestino. Assim, a presença do probiótico teria menor impacto sobre o meio ambiente, quando a liberação de metano nas fezes foi inferior seguido pela combinação de probiótico e antibiótico, nas condições da granja comercial para a fase de terminação dos suínos.

Tabela 15 - Produção de metano nas fezes após 24, 48, 96 e 168 horas após a coleta

	Antibiótico	Ant. + Prob.	Probiótico	EPM
Produção de Metano (mMol/kg/h)				
24h	0,4564	0,3211	0,2284	0,107
48h	0,4440	0,2978	0,2709	0,104
96h	0,3051	0,1751	0,1404	0,073
168h	0,2095	0,1121	0,0871	0,047
Produção de Metano (mg/kg/h)				
24h	7,3016	5,1375	3,6548	1,710
48h	7,1037	4,7656	4,3342	1,660
96h	4,8814	2,8009	2,2466	1,169
168h	3,3520	1,7942	1,3938	0,745

EPM= erro padrão médio.

Tabela 16 - Média de pH das fezes no momento da coleta

Tratamentos	pH fecal
Antibiótico	5,60
Antibiótico + Probiótico	5,43
Probiótico	5,40

Figura 1 - Produção de metano nas fezes em 24, 48, 96 e 168 horas após coleta (mMol/kg/h)

Fonte:própria

Figura 2 - Produção de metano nas fezes em 24, 48, 96 e 168 horas após coleta (mg/kg/h)

Fonte: própria

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo indica vantagens do probiótico *Bacillus subtilis* em substituição ao antibiótico, baseando-se na digestibilidade da dieta e produção de metano nas fezes em todos os períodos testados. No desempenho a melhor resposta do uso do probiótico na dieta se deu na fase de crescimento II.

Ao avaliar a viabilidade econômica, a baixa variação de margem bruta entre o tratamento com antibiótico e probiótico, sugere efeitos positivos da dieta com *Bacillus subtilis* nas fases de crescimento I, crescimento II e terminação. Tal vantagem pode ser interpretada como maior viabilidade financeira.

Como a eficácia dos produtos depende estritamente dos níveis utilizados e das características de cada aditivo, é difícil comparar estudos provenientes de condições diferentes, pois, na literatura consultada, não foi encontrada pesquisa similar, nas fases testadas.

Embora o uso de probióticos venha acontecendo há décadas na suinocultura, os resultados científicos são muito variáveis. Alguns efeitos positivos, ou apenas sugestão de efeitos do uso desses microingredientes podem ser: baixa viabilidade de certas culturas utilizadas, diferenças entre cepas, interação dos microorganismos com nutrientes e outros microingredientes presentes na dieta (BELLAYER, 2000).

7 CONCLUSÕES

O estudo que abrangeu diversas metodologias de avaliação da criação de suínos, utilizando o probiótico *Bacillus subtilis* como alternativa ao uso de antibiótico nas fases de crescimento I, crescimento II e terminação, permite concluir que:

1. Na condição experimental segregada, na fase de crescimento II, independentemente do sexo, além do GPD, a variação dos resultados de conversão alimentar sugeriu melhor desempenho dos animais submetidos ao tratamento com probiótico.
2. A presença de probiótico na dieta melhorou a digestibilidade aparente da proteína, sugerindo também melhor digestibilidade da matéria seca, da energia e da relação energia digestível: energia bruta.
- 3 Não há, significativa perda de capital (pequena diferença entre as margens brutas por quilograma) caso se opte pelo probiótico, ao invés do antibiótico.
4. Fezes oriundas da dieta com probiótico produzem menor quantidade de metano que aquelas da combinação probiótico e antibiótico ou só o antibiótico; o que se torna benéfico ao meio ambiente.

REFERÊNCIAS

- AFONSO, E. R. **Associação de probióticos no aleitamento e creche em leitões desafiados com *Salmonella Typhimurium***. [Association of probiotics in lactation and nursery in piglets challenged with *Salmonella Typhimurium*]. 2011. 107 f. Dissertação (Mestrado em Ciências)- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2011.
- ALEXOPOULOS, C.; GEORGOULAKIS, I. E.; TZIVARA, A.; KYRIAKIS, C. S.; GOVARIS, A.; KYRIAKIS, S. C. Field evaluation of the effect of a probiotic-containing *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis* spores on the health status, performance, and carcass quality of grower and finisher pigs. **Journal of Veterinary Medicine**, v. 51, p. 306–312, 2004.
- ANDREATTI FILHO, R. L.; SAMPAIO, H. M. Probióticos e prebióticos. **Revista de Educação Continuada do CRMV – SP**, v. 2, p. 59-71, 1999.
- APERCE, C. C.; BURKEY, T. E.; KUKANICH, B.; CROZIER-DODSON, B. A.; DRITZ, S. S.; MINTON, J. E. . Interaction of *Bacillus* species and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in immune or inflammatory signaling from swine intestinal epithelial cells. **Journal of Animal Science**, v. 88, p. 1649-1656, 2010.
- ARA, K.; HAMA, M.; AKIBA, S.; KOIKE, K.; OKISAKA, K.; HAGURA, T.; KAMIYA, T.; TOMITA, F. Foot odor due to microbial metabolism and its control. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 52, p. 357–364, 2006.
- AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 13th. Washington, DC: AOAC, 1980.
- ASSUNÇÃO, P. E. V.; CAMPOS, P. S. Orientação regional das exportações do agronegócio de carne suína. **Informações Econômicas**, São Paulo, v. 42, n. 3, 2012.
- BARROS, D. S.; CARAMORI Jr., J. G.; FRAGA, A. L.; ABREU, J. G.; CORREA, V. S.; MAINARDI, F.. Probiótico e/ou prebiótico sobre as características da leitegada e da matriz lactante. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 4, Aug. 2011 .
<http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542011000400021>. Disponível em:
 <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-70542011000400021&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 17 Jan. 2013. .
- BELIAVSKAIA, V. A. ; IGNATE'EV, G. G.; CHERDYNTSEVA, N. V.; LITVIAKOV, N. V. Adjuvant properties of subalin, a recombinant interferon-producing probiotic. **Zhurnal Mikrobiologii Epidemiologii i Immunobiologii**, Moskva, v. 78, n. 6, p. 77-82, 2001.
- BELLAVER, C. O uso de microingredientes (aditivos) na formulação de dietas para suínos e suas implicações na produção e na segurança alimentar. In: CONGRESSO MERCOSUR DE PRODUCCIÓN PORCINA, 2000, Buenos Aires. **Anais...**Buenos Aires. 2000. p. 56-78.

supplement on growth performance and pen cleaning characteristics of growing-finishing pigs. **Journal of Animal Science**, v. 86, p. 1459-1467, 2008.

DE ANGELIS, M. descrever os demais autores Survival and persistence of *Lactobacillus plantarum* 4.1 and *Lactobacillus reuteri* 357 in the gastrointestinal tract of pigs. **Veterinary Microbiology**, v. 23, n. 1-3, p. 133-144, 2007.

DIAS, C. A.; BITENCOURT, M. I. P.; BEUX, S. Estimativa do desempenho das lagoas de estabilização em um laticínio. **Synergismus Scyentifica**, Pato Branco, v. 1, n. 2, p. 25-30, 2006.

BURKE, L. M.; LASHOF, D. A. Greenhouse gas emissions related to agriculture and land-use practices. In: KIMBALL, B. A.; ROSENBERG, N. J.; ALLEN, L. H. (Ed.). **Impact of dioxide, trace gases, and climate change on global agriculture**. Madison: American Society of Agronomy, 1990. p. 27-43. Special Publication, 53.

EARL, A. M.; LOSICK, R.; KOLTER, R. Ecology and genomics of *Bacillus subtilis*. **Trends of Microbiology**, v. 16, p. 269-275, 2008.

EIDELSBURGER, U.; KIRCHGESSNER, M.; ROTH, F. X. Zum einfluss von fumarsaure, salzsaure, natriumformiat, Tylosin und Toyocerin auf tagliche zunahmen, futteraufnahme, futterverwertung und verdaulichkeit. 11. Untersuchungen zur nutritiven wirksamkeit von organischen sauren in der ferkelaufzucht. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 68, n. 4-5, p. 82-92, 1992.

ERRINGTON, J. *Bacillus subtilis* sporulation: Regulation of gene expression and control of morphogenesis. **Microbiological reviews**, v. 57, n. 1, p. 1-33, 1993.

FERNÁNDEZ, G.; MERCADO, J.; TOMÁS, E.; IZQUIERDO, C. G. E. **Influencia del nivel energético ya la adición de um probiótico (*Bacillus licheniformis* y *Bacillus subtilis* en relación 1:1) sobre el rendimiento de lechones destetados precozmente**. AINDA, XIV In: JORNADAS SOBRE PRODUCCIÓN ANIMAL, 15., España. 2011. v. 1, p. 249-251, 2011.

FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, Lavras, v. 6, p. 36-41, 2008.

FRITIL'S, C. A.; KERSN, J. H.; MOTL, M. A.; KROGER, E. C.; YAN, F.; SI, J.; JIANG, Q.; CAMPOS, M. M.; WALDROUP, A. L.; WALDROU, P. W. *Bacillus subtilis* C-3102 (calsporin) improves live preformance and microbiologic status of broiler chickens. **Journal of Applied Research**, v. 9, n. 2, p. 149-155, 2000.

FOX, S. M. Probiotics: intestinal inoculants for production animals. **Veterinary Medicine**, Kansas, v. 83, n. 8, p. 806-830. 1988.

FULLER, R. A Review: Probiotics in man and animals. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 66, p. 365-378, 1989.

FULLER, R.; GIBSON, G. R. Probiotics and prebiotics: microflora management for improved gut health. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 4, n. 9, p. 477-481, 1998.

GAGGIÀ, F.; MATTARELLI, P.; BIAVATI, B. Review: probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. **International Journal of Food Microbiology**, v. 141, p. S15–S28, 2010.

GEBRU, E.; LEE, J. S.; LEE, J. S.; SON, J. C.; YANG, S. Y.; SHIN, S. A.; KIM, B.; KIM, M. K.; PARK, S. C. Effect of probiotic-, bacteriophage-, or organic acid-supplemented feeds or fermented soybean meal on the growth performance, acute-phase response, and bacterial shedding of grower pigs challenged with *Salmonella enterica* serotype Typhimurium1. **Journal of Animal Science**, v. 88, p. 3880-3886, 2010.

GIANG, H. H VIET, T. Q.; OGLE, B.; LINDBERG, J. E. Effects of supplementation of probiotics on the performance: nutrient digestibility and faecal microflora in growing-finishing pigs. **Journal of Animal Science**, v. 24, n. 5, p. 655 – 661, 2011.

GIL-TURNES, C.; SANTOS, A. F.; CRUZ, F. W.; MONTEIRO, A. V. Properties of the *Bacillus cereus* strain used in probiotic CenBiot. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 30, n. 1, p. 11-14, 1999.

GONZALEZ, D. J.; HASTE, N. M.; HOLLANDS, A.; FLEMING, T. C.; HAMBY, M.; POGLIANO, K.; NIZET, V.; DORRESTEIN, P. C. Microbial competition between *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus* monitored by imaging mass spectrometry. **Microbiology**, v. 157, p. 2485–2492, 2011.

GUO, X.; LI, D.; LU, W.; PIAO, X.; CHEN, X. Screening of *Bacillus* strains as potential probiotics and subsequent confirmation of the in vivo effectiveness of *Bacillus subtilis* MA139 in pigs. **Antonie van Leeuwenhoek** v. 90, n. 2, p. 139–146, 2006.

HAESE, D; SILVA, B. A. N. Antibióticos como promotores de crescimento para monogástricos. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 1, n. 1, p.07-19, 2004. Disponível em: <http://www.nutritime.com.br/arquivos_internos/artigos/002V1N1P07_19_JUL2004.pdf>. Acesso em: 13 ago. 2012.

HOA, N. T.; BACCIGALUPI, L.; HUXHAM, A.; SMERTENKO, A.; VAN, P. H.; AMMENDOLA, S.; RICCA, E.; CUTTING, S. M. Characterization of *Bacillus* species used for oral bacteriotherapy and bacterioprophylaxis of gastrointestinal disorders. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 66, n. 12, p. 5241-5247, 2000.

HONG, H. A.; HUANG, J. M.; KHANEJA, R.; HIEP, L. V.; URDACI, M. C.; CUTTING S.M. The safety of *Bacillus subtilis* and *Bacillus indicus* as food probiotics. **Journal of Applied Microbiology**, v. 105, p. 510–520, 2008.

JIN, L. Z.; HO, Y. W.; ABDULLAH, N.; JALALUDIN, S. Digestive and bacterial enzyme activities in broilers fed diets supplementes with *Lactobacillus* cultures. **Poultry Science**, v. 79, p. 886-891, 2000.

JONSSON, E.; CONWAY, P. Probiotics for pigs. In: FULLER, R. (Ed.). **Probiotics: the scientific basis**. London: Chapman e Hall. 1992. cap. 11, p. 259-315.

JUNQUEIRA, O. M.; BARBOSA, L. C. G. S.; PEREIRA, A. A.; ARAÚJO, L. F.; GARCIA NETO, M.; PINTO, M. F. Uso de aditivos em rações para suínos nas fases de creche, crescimento e terminação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 12, p. 2394-2400, 2009.

KAUR, I. P.; CHOPRA, K.; SAINI, A. Probiotics: potencial pharmaceutical applications. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 15, p. 1-9, 2002.

KIMA, J. C.; HANSEN, C. F.; MULLANA, B. P.; PLUSKEC, J. R. Nutrition and pathology of weaner pigs: Nutritional strategies to support barrier function in the gastrointestinal tract. **Animal Feed Science and Technology**, v. 173, p. 3–16, 2012.

KORNEGAY, E. T.; RISLEY, C. R. Nutrient digestibilities of a corn-soybean meal diet as influenced by *Bacillus* products fed to finishing swine. **Journal of Animal Science**, v. 74, p. 799-805, 1996.

LEEDLE, J. Probiotics and DMFs- mode of action in the gastrointestinal tract. In: SIMPÓSIO SOBRE ADITIVOS ALTERNATIVOS NA NUTRIÇÃO ANIMAL, **Anais...** Campinas: CBNA, 2000. p. 25-40.

LESER, T. D.; KNARREBORG, A.; WORM, J. Germination and outgrowth of *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* spores in the gastrointestinal tract of pigs. **Journal of Applied Microbiology**, v. 104, p. 1025–1033, 2008.

LIU, W. T.; YANG, Y.; XUB, Y.; LAMSAC, A.; HASTEB, N. M.; YANG, J. Y.; NGE, J.; GONZALEZ, D.; ELLERMEIER, C. D.; STRAIGHT, P. D.; PEVZNER, P. A.; POGLIANOC, J.; NIZET, V.; POGLIANOC, K.; DORRESTEINA, P. C. Imaging mass spectrometry of intraspecies metabolic exchange revealed the cannibalistic factors of *Bacillus subtilis*. **Proceedings of the National Academy of Sciences, U S A**, v. 107, p. 16286–16290, 2010.

MACARI, M.; FURLAN, R. L. Probióticos. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2005, Santos. **Anais...** Santos: Fundação Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas, 2005, p. 53-68, 2005.

MATTERSON, L. D. **The metabolizable energy of feed ingredients for chickens**. Connecticut: Agricultural Experiment Station, 1965. p. 3-15. (Research Report, 7).

MENG, Q. W.; YAN, L.; AO, X.; ZHOU, T. X.; WANG, J. P.; LEE, J. H.; KIM, I. H. Influence of probiotics in different energy and nutrient density diets on growth performance, nutrient digestibility, meat quality, and blood characteristics in growing-finishing pigs. **Journal of Animal Science**, v. 88, p. 3320-3326, 2010.

MIELE, M.; MACHADO, J. Panorama da carne suína brasileira. **Agroanalysis**, São Paulo, v. 30, n. 1, p. 36-42, 2010.

MILES, R. D. Manipulation of the microflora of the gastrointestinal tract: natural ways to prevent colonization by pathogens. In: ALLTHECH'S NINTH ANNUAL SYMPOSIUM, 1993, Florida. . **Proceedings...** Nicholasville: Allthech Techninical, 1993. p. 133-150.

MONTENY, G. J.; GROENESTEIN, C. M.; HILHORST, M. A. Interactions and coupling between emissions of methane and nitrous oxide from animal husbandry. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 60, p. 123–132, 2001

NOGUEIRA, M. G.; CALVEYRA, J. C.; KICH, J. D.; COLDEBELLA, A.; MORES, N.; CARDOSO, M. R. I. Efeito de probiótico na infecção e excreção fecal de *Salmonella* em suínos. **Ciencia Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 3, Mar. 2012 .
<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782012000300021>. Disponível em:
 <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782012000300021&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 17 jan. 2013.

NI, J. Q.; HEBER, A. J.; LIM, T. T.; TAO, P. C. Methane and carbon dioxide emission from two pig finishing barns. **Journal of Environment**, v. 37, p. 2001–2011, 2008.

OKAMOTO, K.; FUJIYA, M.; NATA, T.; UENO, N.; INABA, Y.; ISHIKAWA, C.; ITO, T.; MORIICHI, K.; TANABE, H.; MIZUKAMI, Y.; CHANG, E. B.; KO, Y. Competence and sporulation factor derived from *Bacillus subtilis* improves epithelial cell injury in intestinal inflammation via immunomodulation and cytoprotection. **International Journal of Colorectal Disease**, v. 27, n. 8, p. 1039-1046, 2012.

PALERMO, J. N. Uso de medicamentos veterinários: impactos na moderna avicultura. In: SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA, 2006, Chapecó. **Anais...**Chapecó. 2006. p. 70-78

PARAZZI, L. J. **Efeito da combinação de probióticos na dieta de leitões desafiados com *Salmonella Typhimurium***. 2010. 110 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2010.

PARRA, V.; PETRÓN, M. J.; MARTÍN, L.; BRONCANO, J. M.; TIMÓN, M. L. Modification of the fat composition of the Iberian pig using *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis*. **European Journal of Lipid Science Technology**, v. 112, p. 720–726, 2010.

ROBLES-HUAYNATE, R. A. **Probiótico em dietas de suínos**. 2008. 65 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2008.

ROBLES, R. A. H.; THOMAZ, M. C.; KRONKA, R. N.; SCANDOLERA, A. J.; FRAGA, A. L.; BUDIÑO, F. E. L. **Consumo de ração e digestibilidade das dietas com e sem probiótico para suínos em crescimento**. Faltam: data e total de páginas. Disponível em:
 <http://www.porkworld.com.br/artigos/post/consumo-de-racao-e-digestibilidade-das-dietas-com-e-sem-probiotico-para-suinos-em-crescimento_10141>. Acesso em: 15 ago. 2012.

RODRIGUES, D. J. **Frutooligossacarídeo e feno de alfafa para leitões**: características de carcaça, metabolismo e perfil de agcc. 2010. 48 f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Zootecnia. APTA/SAA, Nova Odessa - SP, 2010.

RODRIGUES, P. H. M.; PINEDO, L. A.; SOLORZANO, L. A. R.; PERNA JR., F.; MARTINS, M. F.; CASTRO, A. L.; GODOY, G. L. A.; MARINO, C. T. Descrição da metodologia ex-situ de estudo da fermentação ruminal (micro-rúmen) com vistas à mensuração da produção de metano. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA: A PRODUÇÃO ANIMAL NO MUNDO EM TRANSFORMAÇÃO BRASÍLIA – DF., 49., Brasília. **Anais...** 2012.

ROSS, G. R.; GUSILS, C.; OLISZEWSKI, R.; HOLGADO, S. C.; GONZÁLEZ, S. N. Effects of probiotic administration in swine. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 109, n. 6, p. 545–549, 2010.

ROTH, F. X.; KIRCHGEßNER, M. Nutritive wirksamkeit von toyocerin. 2 Kalbermast. Landwirtschaftliche-Forschung, **Frankfurt**, v. 41, n. 1-2, p. 63-70, 1988.

ROWLAND, I. R. Metabolic interactions in the gut. In: FULLER, R. **Probiotics**: the scientific basis. London: Chapman e Hall, 1992. p. 29-53.

SAMANYA, M.; YAMAUCHI, K. Histological alterations of intestinal villi in chickens fed dried *Bacillus subtilis* var. *natto*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**, v. 133, p. 95–104, 2002.

SANTOS, J. S. Fatores dietéticos que afetam a saúde intestinal e a colonização de microrganismos. In: SEMINÁRIO DISCIPLINA SEMINÁRIOS APLICADOS DO PROGRAMA DE PÓS- GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL DA ESCOLA DE VETERINÁRIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS, Goiânia, 2011.

SCHAREK, L. descrever os demais autores Influence of a probiotic strain on development of the immune system of sow and piglets. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 105, n. 1-2, p. 151-161, 2005.

SHANAHAN, F. Mini-reviews and perspectives: probiotics in perspective. **Gastroenterology**, v. 139, p. 1808–1812, 2010.

SILVA, C. A.; HOSHI, E. H.; PACHECO, G. D.; BRIGANÓ, M. V. Avaliação de probióticos (*Pediococcus acidilactici* e *Bacillus subtilis*) após o desmame e efeitos no desempenho dos leitões. **Semina**: Ciências Agrárias, Londrina, v. 27, n. 1, p. 133-140, 2006.

SILVA, D. J. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. Viçosa: UFV, 1998. p. 165. 1998.

SILVA, M. L. F.; LIMA, J. A. F.; CANTARELLI, V. S.; AMARAL, N. O.; ZANGERÔNIMO, M. G.; FIALHO, E. T. Probiotics and antibiotics as additives for sows and piglets during nursery phase. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 11, p. 2453-2459, 2010.

STEIN, T. *Bacillus subtilis* antibiotics: structures, syntheses and specific functions.

Molecular Microbiology, v. 4, p. 845-857, 2005.

TUOHY, K. M.; PROBERT, H. M.; SMEJKAL, C. W.; GIBSON, G. R. Using probiotics and prebiotics to improve gut health. **Reviews Therapeutic Focus**, v. 8, n. 15, p. 692-700, 2003.

TURNER, J. L.; PAS, S.; DRITZ, S. MINTON, J. E. Review: Alternatives to conventional antimicrobials in swine diets. **The Professional Animal Scientist**, v. 17, p. 217-226, 2001.

UNFCCC. UNITED NATIONS FRAMEWORK CONVENTION ON CLIMATE CHANGE. **Overview of project activity cycle**. Disponível em: 2007.

<<http://unfccc.int/cdm>>. Acesso em: 24 out. 2012.

VASSALO, M.; FIALHO, E. T.; OLIVEIRA, A. I. G.; TEIXEIRA, A. S.; BERTECHINI, A. G. Probióticos para leitões dos 10 aos 30 kg de peso vivo. **Revista Brasileira Zootecnia**, v. 26, n. 1, p. 131-138, 1997.

WALSH, M. C. descrever os demais autores Predominance of a bacteriocin-producing *Lactobacillus salivarius* component of a five-strain probiotic in the porcine ileum and effects on host immune phenotype. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 64, n. 2, p. 317-327, 2008.

WALSH, M. C. ; ROSTAGNO, M. H.; GARDINER, G. E.; SUTTON, A. L.; RICHERT, B. T.; RADCLIFFE, J. S. Controlling *Salmonella* infection in weanling pigs through water delivery of direct-fed microbials or organic acids. Part I: Effects on growth performance, microbial populations, and immune status. **Journal of Animal Science**, v. 90, p. 261-271, 2012.

WALSH, M. C.; ROSTAGNO, M. H.; GARDINER, G. E.; SUTTON, A. L.; RICHERT, B. T.; RADCLIFFE, J. S. Controlling *Salmonella* infection in weanling pigs through water delivery of direct-fed microbials or organic acids: Part II. Effects on intestinal histology and active nutrient transport. **Journal of Animal Science**, v. 90, p. 2599-2608, 2012.

WUA, X.; YAO B, W.; ZHU A, J.; MILLER, C. Biogas and CH₄ productivity by co-digesting swine manure with three crop residues as an external carbon source. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 4042-4047, 2010.

YEOW, L. T. A.; HAI, M. T. Inhibition of *Clostridium perfringens* by a novel strain of *Bacillus subtilis* isolated from the gastrointestinal tracts of healthy chickens. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 8, p. 4185-4190, 2005.

ZIEMER, C. J.; GIBSON, G. R. An Overview of probiotics, prebiotics and synbiotics in the functional food concept: perspectives and future strategies. **International Dairy Journal**, v. 8, p. 473-479, 1998.